

식용버섯 추출물의 항산화 활성 및 혈액암세포에 대한 저해효과

김현정 · 배준태¹ · 이지원² · 황보미향² · 임효권² · 이인선[†]
계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터, ¹아시아대학교 한방식품영양학과,
²계명대학교 식품가공학과

Antioxidant Activity and Inhibitive Effects on Human Leukemia Cells of Edible Mushrooms Extracts

Hyun Jeong Kim, Joon-Tae Bae¹, Ji-Won Lee², Mi-Hyang Hwang Bo²,
Hyo Gwon Im² and In-Seon Lee[†]

The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
¹Dept. of Oriental Medical Food and Nutrition, Asia University, Kyungsan 712-220, Korea
²Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Abstract

The effect of 12 edible mushroom species on the antioxidant and cytotoxicity on cancer cells were studied. Methanol extracts of *Lyophyllum ulmarium*, *Cordyceps militaris* and *Sarcodon aspratus* showed 30~60% DPPH radical scavenging activity and 39~53% protective effects against the cytotoxicity of H₂O₂. Methanol extracts of *Sarcodon aspratus*, *Lyophyllum ulmarium*, *Cordyceps militaris*, *Agaricus blazei* and *Ganoderma lucidum* revealed high inhibitive activities in cytotoxicity on human leukemia cells such as promyelocytic leukemia cell (HL60) and histiocytic lymphoma cell (U937). Highest toxicity was observed against HL60 cells in *Sarcodon aspratus* methanol extracts showing 70.5% inhibition at 1mg/mL, whereas *Cordyceps militaris* methanol extracts showed 81.5% inhibition against U937 cells. Most water extracts of edible mushrooms exhibited the lowest effect against HL60 and U937 cells compared to methanol extracts. These extracts did not show cytotoxic effects against human lymphocyte. Results revealed 5 kinds of edible mushroom (*Cordyceps militaris*, *Agaricus blazei*, *Lyophyllum ulmarium*, *Ganoderma lucidum* and *Sarcodon aspratus*) have strong antioxidative and *in vitro* anticancer effects.

Key words : antioxidative effect, anticancer effect, edible mushrooms

서 론

최근 노화 및 암 발병의 주된 요인중 하나로 알려진 자유 라디칼(free radical)은 superoxide anion radical, hydroxy radical, 과산화수소와 같은 활성 산소종의 산화적 대사산물로, 현대인에게는 이들 활성산소종이 체내 축적될 기회가 많아 효소적, 비효소적인 방어 시스템에 의하여 정상적으로 소거되지 않으면 이로 인한 산화적 스트레스를 받을 수 있다. 이들 자유 라디칼은 생체내에서 단백질, 생체막, DNA 등에 작용하여 세포 생체막의 구성성분인 불포화지

방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 생성하고, DNA의 산화적 손상으로 암을 비롯한 뇌질환, 심장질환, 동맥경화, 염증, 노화 등 각종 질병이 유발될 수 있다(1,2). 이에 인체 내에서는 세포막에서 지질 과산화 및 자유 라디칼의 생성을 억제하는 반응, 생성된 자유 라디칼의 소거반응, 손상된 세포의 복구 반응 등의 항산화 기작이 일어나고 있다(3).

최근 들어 활성 산소를 방어하는 항산화제의 개발 연구에도 많은 관심이 이루어져 천연물중 여러 생약재, 각종 식용식물이나 해초류, 향신료, 수산물 그리고 버섯 등에서 항산화 효과가 확인되었다(4-7). 그중 버섯류는 예로부터 독특한 향미성분과 약리효과 때문에 널리 이용되고 있으며, 항산화, 항암, 생체기능조절, 성인병에 대한 예방 및

[†] Corresponding author. E-mail : inseon@kmu.ac.kr,
Phone : 82-53-580-6440, Fax : 82-53-580-6447

개선효과 등의 여러 생리활성도 보고되고 있다(8-13).

특히 버섯의 자실체 및 균사체에 대한 항산화 효과가 보고되어 큰비단그물버섯 (*Stullius grevillei*)의 경우는 항산화 물질인 bolegrevil (1-acetoxy-6-geranylgeranyl -2,4-dihydroxybenzen)이 밝혀졌으며, 까치버섯 (*Polyzellus multiplex*)에서도 polyozellin과 tjhelephoric acid 등의 항산화 물질이 규명되기도 하였다(10,11). 또한 버섯은 우수한 항암 활성 및 면역 활성을 증강시키는 것으로 보고 되어 (12,13), 항암 효능을 가진 버섯류의 이용은 기존의 항암 요법제보다 부작용이 적으며 특히 면역기능을 증강시켜 항암력을 나타낼 수 있다는 점에서 주목을 받고 있다.

그리고 식생활의 서구화로 성인병이 증가되는 시점에서 버섯에는 당질, 단백질, 비타민, 무기질과 같은 영양소가 일반 채소류 이상으로 골고루 들어 있고, 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 기호성도 높으므로 식용버섯의 효용가치를 높일 수 있는 버섯류에 대한 생리활성의 규명이 이루어져야 한다.

따라서 본 연구에서는 일상생활에서 식용 또는 약용으로 이용되고 있는 버섯류에 대한 생리활성을 탐색하여 이들 버섯의 효용가치를 높일 수 있는 기초 자료를 얻고자, 12종의 버섯 추출물을 각각 제조한 다음 이들 추출물의 항산화능 검색과 함께 인간 유래의 혈액암 세포주 및 정상 임파구 세포의 성장에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 버섯은 양송이버섯, 아가리쿠스, 목이버섯, 그물버섯, 등충하초, 영지버섯, 표고버섯, 만가닥버섯, 새송이버섯, 애너타리버섯, 느타리버섯 그리고 향버섯 등 12종으로 강원도 홍천, 경북 김천, 대구의 약령시장 및 백화점에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 버섯 목록은 Table 1과 같다.

Table 1. List of edible mushrooms used

Scientific name	Korean name
<i>Agaricus bisporus</i>	양송이
<i>Agaricus blazei</i>	아가리쿠스
<i>Auricularia auricula-judae</i>	목이버섯
<i>Boletus edulis</i>	그물버섯
<i>Cordyceps militaris</i>	번대기등충하초
<i>Ganoderma lucidum</i>	영지버섯
<i>Lentinus edodes</i>	표고버섯
<i>Lyophyllum ulmarium</i>	만가닥버섯
<i>Pleurotus eryngii</i>	새송이버섯
<i>Pleurotus ostreatus1</i>	애너타리버섯
<i>Pleurotus ostreatus2</i>	느타리버섯
<i>Sarcodon aspratus</i>	향버섯

추출물 제조

먼저 구입한 버섯을 건조하여 각각 분쇄기를 사용하여 분말로 만든 후, 10배의 80% methanol을 첨가하여 37℃에서 1,500 rpm에서 10시간 동안 3회 반복 추출하여 상등액을 모으고, 이 액을 rotary evaporator (R-3000, Buchi, Germany)로 농축한 후 동결건조하여 버섯 메탄올추출물을 제조하였다. 그리고 버섯 열수 추출물의 경우는 건조된 각각의 버섯에 10배의 증류수를 첨가하여 100℃에서 4시간씩 3회 열탕 추출한 다음, 여과하여 상등액을 모아 감압농축, 동결건조한 후 분말화하여 사용하였다.

세포주 배양

Chinese hamster lung fibroblast V79 cells은 Dr. Tsutomu Nakayama (University of Shizuoka, Japan)로부터 분양받아 사용하였고, 인간유래의 혈액암 세포주인 promyelocytic leukemia cell인 HL60과 histiocytic lymphoma cell U937는 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 사용하였다. V79 cell은 minimum essential medium (MEM), 암세포주인 RPMI-1640 배지에 10% FBS (fetal bovine serum)와 1% antibiotics (penicillin/streptomycin)을 첨가하여 37℃의 5% CO₂ incubator에서 배양하면서, 2~3일에 한번씩 계대배양 하였다.

DPPH 라디칼 소거법에 의한 항산화 활성

버섯 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Blois 등의 방법 (14)에 의해 다음과 같이 측정하였다. 시험관에 0.2 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 2 mL을 첨가한 후 시료추출물 (1 mg/mL) 용액 50 uL를 가하여 10 초간 진탕한 후 37℃에서 30 분간 반응시킨 다음, 이 반응액을 분광광도계 (Spectronic GENESYS 5, MILTON ROY)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구는 시료대신 메탄올을 첨가하여 수행하였고, 양성 대조구로 기존의 항산화제로 알려진 tocopherol 및 BHA와 활성을 비교하였다. Free radical 소거 활성은 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도를 구하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Scavenging}(\%) = \frac{\text{대조구의흡광도} - \text{시료첨가구의흡광도}}{\text{대조구의흡광도}} \times 100$$

세포주를 이용한 항산화효과 검색

세포주를 이용한 항산화효과 측정은 Nakayama 등(15)의 방법에 따라 Colony formation assay를 수행하였다. 먼저 V79 cell수가 200개/dish로 조정하여 60 mm petri dish에 MEM과 10% FBS가 첨가된 배지 5 mL에 넣어 37℃의 5% CO₂ incubator에서 2시간 배양하였다. 배양후 배지를 제거하고 FBS가 없는 MEM을 5 mL 첨가한 다음 시료를 넣고 4시간 더 배양하였다. 배양 후 HEPES가 첨가된 HBS (pH 7.3)로 세척한 다음 세포를 60 μM H₂O₂가 첨가된 HBS를

넣어 30분간 다시 배양한 후 10% FBS가 첨가된 MEM을 넣어 5일간 배양하였다. MEM배지를 제거하고 99% methanol을 첨가하여 실온에서 1시간 방치하여 cell을 고정시킨 후 Giemsa stain으로 염색한 후 colony 수를 측정하였다. 세포생존률은 시료 무첨가 대조군에 대한 시료첨가군의 colony수로 표시하였다.

암세포 성장 저해 효과

버섯 메탄올 추출물의 암 세포주에 대한 세포증식 억제 효과는 MTT assay(16)로 조사하였다. 먼저 각 세포수를 1×10^5 cell/mL이 되게 한 후 96well plate에 100 μ L/well씩 넣고 시료를 10 μ L/well씩 분주하여 48시간 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 그 후 MTT시약 (50 mg/mL)을 10 μ L/well씩 넣어 4시간 더 배양한 후 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거한 다음, DMSO를 100 μ L/well씩 첨가하여 섞어준 후 micro plate reader로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

정상 임파구 분리 및 세포 독성 검색

20~25세의 건강한 성인 남자로부터 heparin 처리한 주사기를 사용하여 혈액을 채취한 후, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 층의 경계면을 pasteur pippete으로 회수한 다음, 회수한 액에 2배의 배지를 넣어 잘 섞어 비중차 용액인 histopaque-1077위에 서서히 중층하였다. 중층후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 histopaque-media 접촉면의 임파구층을 pasteur pippete로 회수한 다음, 다시 배지를 섞어 4,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 임파구 세포를 가라앉게 하였다. 이 과정을 3회 정도 반복하여 세척한 후 1×10^6 cells/mL이 되도록 임파구 세포수를 조절한 다음, 각 시료를 첨가하여 암세포주와 동일한 방법으로 MTT assay를 수행하여 임파구의 생존 세포수를 조사하였다.

$$\text{Survivalrate}(\%) = \frac{\text{시료처리군의흡광도}}{\text{대조군의흡광도}} \times 100$$

통계처리

대조군과 각 시료에서 얻은 실험자료로부터 ANOVA를 구한 후 Student's t test를 이용하여 통계 분석하였다.

결과 및 고찰

버섯 추출물의 항산화 효과

12종의 식용 또는 약용버섯 추출물의 DPPH radical 소거 효과를 검토한 결과는 Fig. 1과 같았으며, 향버섯, 번데기동충하초, 만가닥버섯, 아가리쿠스, 영지버섯, 표고버섯 메탄올 추출물에서 30~60% 정도의 항산화 활성을 나타내었고, 목이버섯, 그물버섯, 새송이버섯에서 10~30%의 활성을 보

였다. 일상생활에서 식용 및 약용으로 섭취하고 있는 이들 버섯의 DPPH radical 소거 활성은 천연 및 합성항산화제인 tocopherol과 BHA와 비교하여 낮은 활성을 보였는데, 이는 버섯 추출물의 경우 단일 성분이 아니라 여러 가지 활성물질이 공존하여 이들에 의한 상호 작용에 의한 결과로 생각된다.

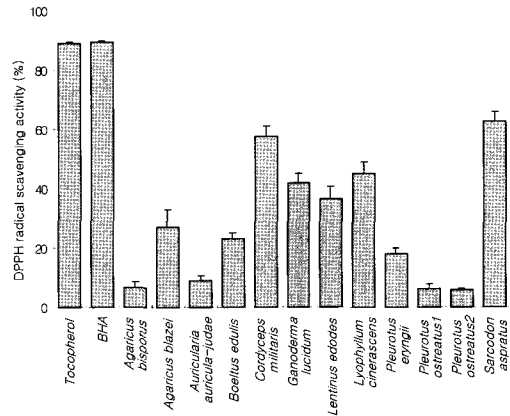


Fig. 1 Radical scavenging effect of edible mushroom methanol extracts.

또한 12종의 버섯 추출물에 대한 항산화 효과를 chinese hamster lung fibroblast V79 cells을 사용하여 H₂O₂로 유도된 세포 독성에 대한 이들 메탄올추출물의 효과를 colony

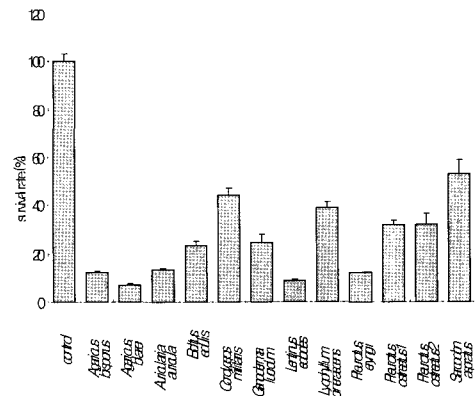


Fig. 2 Effects of H₂O₂-induced cytotoxicity against edible mushrooms methanol extracts in Chinese Hamster V79 Cells.

V79 cell were treated with each samples in MEM(+FBS) at 37 $^{\circ}$ C for 4h, and subsequently with H₂O₂ (60 μ M) in HBS for 30min. After culture in MEM(+FBS) for 5days, the number of colonies were counted. The control was not treated with samples and H₂O₂. Sample Concentration is 100 μ g/dish. SR(Survival rate) % = sample+H₂O₂ group cell count/control group cell count X 100

formation assay로 살펴본 결과는 Fig. 2와 같다. H₂O₂와 함께 시료 (100 μ g/dish) 처리시 만가닥버섯 메탄올추출물의 경우 38.9% 생존율을 보였고, 번데기동충하초의 경우는 44.4%, 향버섯의 경우 53.3%로 유의적인 생존율을 나타내었다. 그리고 느타리, 애느타리, 영지버섯, 그물버섯의 경우

는 H₂O₂에 대한 다소 증가된 세포생존율을 나타내었으나, 일상생활에서 흔히 이용되는 표고, 목이, 양송이, 새송이버섯의 경우는 H₂O₂에 의해 야기된 세포독성에 대한 항산화 능력이 나타나지 않았다.

이러한 결과는 천연 항산화제로 알려진 quercetin, catechin을 동일한 방법으로 측정하였을 때 그 생존율이 각각 51%, 42%로 나타낸 보고(17,18)와 비교할 때, 만가닥버섯, 번데기동충하초 그리고 향버섯 메탄올 추출물은 항산화능이 매우 높음을 알 수 있었고, 특히 향버섯의 H₂O₂에 의해 야기된 세포독성에 대한 생존율이 높은 항산화능을 가진 까치버섯과 유사한 값을 보임을 알 수 있었다(19). 또한 번데기동충하초의 경우 균사체와 자실체 추출물 모두 전자공여능이 있으며, 특히 번데기동충하초내 SOD 기능을 대체하거나 수행할 수 있는 성분이 있어 여러 가지 free radical을 직접적으로 포착되리라 추정된 보고(20)와 일치하는 경향을 보였다.

그러나 버섯 열수추출물의 경우는 대부분 시료에서 항산화 능력이 존재하지 않았다(data not shown). 현재 항산화제로 가장 많이 사용하고 있는 BHA와 BHT는 항산화 효과는 우수하지만 변이원성과 발암성이 문제시되고 있으며(22), tocopherol류와 같은 천연 항산화제는 항산화제 효과가 낮은 문제점이 있음을 고려할 때 항산화능이 높으면서 안전한 천연 항산화제로 버섯 추출물의 이용에 대한 고려도 가능하리라 생각된다.

버섯 추출물의 혈액암 세포주에 대한 저해효과

인간 유래의 promyelocytic leukemia인 HL 60과 histiocytic leukemia인 U937를 사용하여 세포증식 억제효과를 살펴본 결과, 먼저 12종의 버섯 메탄올추출물의 경우 HL 60에 대한 저해 활성은 Table 2와 같다. 시료농도를 0.5mg/mL 처리시에는 번데기동충하초, 영지버섯, 만가닥버섯 그리고 향버섯 메탄올 추출물에서는 다소 높은 47~65%정도의 저해율을 보였으며, 다른 버섯 추출물들은 비교적 낮은 20% 이하의 성장 저해율을 보였다. 버섯 추출물농도를 1.0mg/mL 처리시에는 향버섯, 만가닥버섯, 번데기동충하초, 영지버섯 메탄올 추출물 순으로 50~71% 이상의 높은 성장 저해율을 보였고, 양송이, 아가리쿠스, 목이버섯, 그물버섯, 표고버섯에서도 20~40% 정도의 저해율을 보였다. 이는 버섯 첨가량이 많아짐에 따라 저해 활성이 더 증가함을 알 수 있었고, 특히 향버섯이 HL 60에 대해 70.5%의 가장 높은 저해율을 나타내었다.

그러나 버섯 열수추출물의 경우 HL 60에 대한 저해효과는 대부분의 시료에서 메탄올추출물보다 낮은 저해 활성을 보였으며, 향버섯, 영지버섯, 만가닥버섯 및 아가리쿠스 열수추출물 순으로 약 30~44% 정도의 억제활성을 확인하였다.

한편 U937에 대한 버섯 메탄올추출물의 저해율은 HL

Table 2. Inhibitory effect of methanol and water extracts of edible mushrooms on the growth of human promyelocytic leukemia cells (HL60)

Treatment(mg/mL)	OD (Inhibition rate, %)	
	Methanol ext.	Water ext.
Control	0.247±0.011 ¹⁾	
<i>Agaricus bisporus</i>	0.5 1.0	0.219±0.011 (11.3) 0.207±0.012(16.2)
<i>Agaricus blazei</i>	0.5 1.0	0.195±0.002 (21.1) 0.171±0.006(30.8)
<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.5 1.0	0.198±0.010 (19.8) 0.192±0.006(22.3)
<i>Boletus edulis</i>	0.5 1.0	0.208±0.001 (15.8) 0.241±0.014(2.4)
<i>Cordyceps militaris</i>	0.5 1.0	0.123±0.008 (50.2) 0.177±0.006(28.3)
<i>Ganoderma lucidum</i>	0.5 1.0	0.131±0.006 (47.0) 0.151±0.014(38.9)
<i>Lentinus edodes</i>	0.5 1.0	0.203±0.012 (17.8) 0.187±0.004(24.3)
<i>Lyophyllum cinerascens</i>	0.5 1.0	0.109±0.004 (55.9) 0.161±0.004(34.8)
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.5 1.0	0.227±0.013 (8.1) 0.196±0.012(20.6)
<i>Pleurotus ostreatus1</i>	0.5 1.0	0.235±0.016 (4.9) 0.233±0.009(5.7)
<i>Pleurotus ostreatus2</i>	0.5 1.0	0.232±0.016 (6.1) 0.231±0.009(6.5)
<i>Sarcodon aspratus</i>	0.5 1.0	0.087±0.003 (64.8) 0.139±0.006(43.7)

¹⁾The values are means±S.D.
*Significantly different from the control by student's t test : p<0.05.

60보다는 더 높은 저해율을 보였으며, 특히 목이버섯을 제외한 대부분의 시료에서 50% 이상의 저해율을 나타내었다 (Table 3). 그 중에서도 번데기동충하초는 81.5%의 가장 높은 성장 저해율을 나타내었으며, 아가리쿠스, 만가닥버섯, 영지버섯도 70%이상의 높은 저해율을 보였다. 또한 HL 60에서는 활성을 보이지 않았던 표고버섯, 느타리버섯에서도 60% 이상의 활성을 나타내는 것으로 보아 이는 암세포주의 종류에 따른 저해율의 차이로 생각되었다.

그리고 버섯 열수추출물의 경우 U937에 대해 HL 60과 마찬가지로 대부분의 시료에서 저해활성을 볼 수 없었으며, 번데기동충하초, 향버섯, 아가리쿠스, 영지버섯 열수추출물에서 30~50% 정도의 억제 활성을 볼 수 있었다.

따라서 향버섯, 만가닥버섯, 번데기동충하초, 아가리쿠스, 영지버섯 추출물은 이들 혈액암세포주에 대한 증식 억제 활성이 높음을 확인할 수 있었다. 향버섯 메탄올 추출물의 경우 0.5~1mg/mL농도에서 간암세포 HepG2에 대해 70% 전후의 성장 저해 효과를 나타내다는 보고(22)와 영지버섯, 표고버섯 등은 주로 면역기능을 촉진 또는 부활시킴으로써 암세포 억제효과를 나타내는 것으로 보고(12,13)와 유사한 경향으로 이들 버섯들은 혈액암 세포주에 대해서도 높은 증식억제 효과를 가짐을 알 수 있었다.

Table 3. Inhibitory effect of methanol and water extracts of edible mushrooms on the growth of human histiocytic lymphoma cells (U937)

Treatment(mg/mL)	OD (Inhibition rate, %)	
	Methanol ext.	Water ext.
Control	0.515±0.009 ¹⁾	
<i>Agaricus bisporus</i>	0.5 0.220±0.015(57.3*)	0.473±0.014(8.3)
	1.0 0.214±0.006(58.4)	0.414±0.021(19.7)
<i>Agaricus blazei</i>	0.5 0.111±0.014(78.4*)	0.348±0.006(32.6)
	1.0 0.106±0.016(79.4*)	0.344±0.004(33.2)
<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.5 0.463±0.024(10.9)	0.513±0.002(0.5)
	10 0.457±0.028(11.3)	0.462±0.006(10.3)
<i>Boletus edulis</i>	0.5 0.191±0.004(63.0*)	0.508±0.008(1.4)
	1.0 0.175±0.007(66.0)	0.457±0.017(11.3)
<i>Cordyceps militaris</i>	0.5 0.108±0.009(78.8*)	0.287±0.020(44.3)
	1.0 0.095±0.006(81.5*)	0.249±0.001(51.7*)
<i>Ganoderma lucidum</i>	0.5 0.225±0.012(56.3*)	0.389±0.007(24.5)
	1.0 0.154±0.004(70.1*)	0.346±0.014(32.8)
<i>Lentinus edodes</i>	0.5 0.287±0.013(44.1)	0.509±0.015(1.2)
	1.0 0.195±0.009(62.1*)	0.438±0.017(15.6)
<i>Lyophyllum cinerascens</i>	0.5 0.120±0.012(76.7*)	0.457±0.003(11.3)
	1.0 0.115±0.015(77.7*)	0.384±0.017(25.4)
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.5 0.307±0.014(40.4)	0.434±0.005(15.7)
	1.0 0.246±0.006(52.2*)	0.419±0.020(18.6)
<i>Pleurotus ostreatus1</i>	0.5 0.213±0.006(58.6*)	0.526±0.011(-)
	1.0 0.169±0.001(67.2*)	0.434±0.009(15.7)
<i>Pleurotus ostreatus2</i>	0.5 0.219±0.021(57.5*)	0.514±0.007(0.2)
	1.0 0.208±0.014(59.6*)	0.473±0.009(8.2)
<i>Sarcodon aspratus</i>	0.5 0.196±0.007(62.0*)	0.333±0.014(35.3)
	1.0 0.165±0.005(68.0*)	0.265±0.014(48.5)

¹⁾The values are means±S.D.

*Significantly different from the control by student's t test : p<0.05

한편 이들 버섯추출물의 혈액암세포에 대한 저해 효과가 특이적인 작용인지 혹은 모든 세포에 작용하여 나타나는 효과인지를 확인하기 위하여 성인 남성의 혈액에서 정상 임파구를 분리하여 세포성장 저해효과를 검색하였다. 그 결과, Table 4와 같이 모든 시료에서 95% 이상의 생존율을 확인할 수 있었다. 특히 암세포 성장 저해효과가 크게 나타났던 시료에서도 역시 95% 이상의 생존율을 나타내어 시료 자체의 독성은 거의 없음을 확인할 수 있었다. 이는 메주추출물이 혈액암 세포에 대해 높은 저해효과를 보이나 정상 임파구세포의 성장에는 거의 영향을 주지 않으면서 혈액암 세포에만 특이적으로 작용하는 것(23)과 유사한 경향을 보였다. 따라서 본 실험에서 사용한 버섯 시료는 정상 임파구 세포의 성장에는 거의 영향을 주지 않으면서 암세포 성장만 억제하는 우수한 시료이므로 이들 버섯류의 식용 및 약용의 많은 이용은 건강 증진에 기여하리라 생각된다.

요 약

일상생활에서 식용 또는 약용으로 이용되고 있는 12종의 버섯 추출물을 제조하여 이들 추출물의 항산화능 검색과 함께 인간유래의 혈액암 세포주 및 정상 임파구세포의 성장

Table 4. Effects of methanol and water extracts of edible mushrooms on the growth of lymphocyte

Treatment(mg/mL)	OD (Survival rate, %)	
	Methanol ext.	Water ext.
Control	0.141±0.009 ¹⁾	
<i>Agaricus bisporus</i>	0.5 0.135±0.007(95.5)	0.137±0.009(97.2)
	1.0 0.135±0.010(95.8)	0.135±0.012(95.7)
<i>Agaricus blazei</i>	0.5 0.133±0.007(94.5)	0.135±0.009(95.8)
	1.0 0.132±0.007(95.3)	0.136±0.006(96.5)
<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.5 0.134±0.011(94.8)	0.134±0.011(95.0)
	10 0.134±0.006(95.1)	0.135±0.006(95.8)
<i>Boletus edulis</i>	0.5 0.135±0.009(95.6)	0.136±0.007(96.5)
	1.0 0.140±0.009(99.5)	0.140±0.009(99.3)
<i>Cordyceps militaris</i>	0.5 0.133±0.011(94.6)	0.136±0.012(96.6)
	1.0 0.134±0.009(95.1)	0.137±0.011(97.3)
<i>Ganoderma lucidum</i>	0.5 0.139±0.016(98.7)	0.139±0.008(98.6)
	1.0 0.139±0.013(98.9)	0.139±0.011(98.5)
<i>Lentinus edodes</i>	0.5 0.140±0.006(99.2)	0.139±0.006(98.2)
	1.0 0.137±0.011(97.4)	0.137±0.011(97.5)
<i>Lyophyllum cinerascens</i>	0.5 0.140±0.010(99.5)	0.139±0.012(98.4)
	1.0 0.136±0.007(96.2)	0.138±0.008(97.9)
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.5 0.133±0.009(94.5)	0.134±0.009(95.1)
	1.0 0.133±0.014(94.5)	0.136±0.011(96.6)
<i>Pleurotus ostreatus1</i>	0.5 0.143±0.009(101.5)	0.140±0.009(99.3)
	1.0 0.138±0.008(98.1)	0.139±0.012(98.5)
<i>Pleurotus ostreatus2</i>	0.5 0.142±0.013(101.0)	0.140±0.013(99.2)
	1.0 0.139±0.012(98.9)	0.139±0.009(98.6)
<i>Sarcodon aspratus</i>	0.5 0.134±0.002(95.1)	0.136±0.008(96.5)
	1.0 0.135±0.005(95.8)	0.137±0.005(97.1)

¹⁾The values are means±S.D.

에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 그 결과, 향버섯, 번데기동충하초, 만가닥버섯, 아가리쿠스, 영지버섯, 표고버섯 메탄올 추출물에서 30~60% 정도의 DPPH radical 소거 활성을 보였고, 목이버섯, 그물버섯, 새송이버섯에서 10~30%의 활성을 보였다. 또한 chinese hamster V79 cells에서 만가닥버섯, 번데기동충하초, 향버섯 메탄올추출물의 경우 H₂O₂로 유도된 세포 독성에 대한 39~53% 정도의 유의적인 생존율을 나타내었다. 그리고 인간유래 혈액암세포인 HL60과 U937에 대해 향버섯, 만가닥버섯, 번데기동충하초, 아가리쿠스, 영지버섯 추출물들이 높은 증식 억제 활성이 보였다. 특히 버섯 메탄올추출물 1.0 mg/mL 처리시 HL 60에 대해 향버섯이 70.5%로 가장 높은 저해율을, U937에 대해서는 번데기동충하초가 81.5%의 가장 높은 저해율을 나타내었다. 그리고 버섯 열수추출물들은 메탄올추출물보다 낮은 저해 활성을 보였다. 그러나 모든 버섯추출물들은 인간의 정상 임파구세포에 대해 95% 이상의 높은 생존율을 나타내어, 정상 세포에 대한 성장 저해 효과가 없음을 보여주었다. 번데기동충하초, 아가리쿠스, 만가닥버섯, 영지버섯, 향버섯 추출물은 항산화 활성 및 혈액암 세포주에 대한 증식 억제 활성이 높음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (R03-2002-000-00019-0(2002)) 지원 및 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

참고문헌

- Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V. (1980) Aspects of free radical reactions in biological systems. *Aging. J. Gerontol.* 35, 45-53
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. (1990) Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview, *Methods Enzymol.* Fleischer, S. and Packer, L. (eds.). Academic Press, New York, USA 186, p.1-12
- Block, G. and Langseth, L. (1994) Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol.*, 48, 80-91
- Masaki, H., Sasaki, S., Atsumi, T. and Sakurai, H. (1995) Active oxygen scavenging activity of plants extracts. *Bull. Pharm.*, 18, 162-166
- Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. (1996) Antioxidant activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 83-89
- Hatano, T. (1995) Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species -Tannins and related polyphenols-. *Natural Med.*, 49, 357-363
- Lee, G.D., Chang, H.G. and Kim, H.K., (1997) Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29, 432-436.
- Ko, M.S., Shin, K.M. and Lee, M.Y. (2002) Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 87-91
- Mori, K., Toyomasu, T., Nanba, H. and Kuroda, H. (1986) Antitumor activities of edible mushrooms by oral administration. p.1-6 *Proc. 5th Int'l Sym. Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi.* Kyoto, Japan
- Hayashi, T., Kanetoshi, A., Ikura, M. and Shirahama, H. (1989) Bolegrevilol a new lipid peroxidation inhibitor from the edible mushroom *Suillus grevillei*. *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 1427-1532
- Chung, S.K., Jeon, S.Y., Kim, S.K., Kim, S.I., Kim, G.S. and Kwon, S.H. (2004) Antioxidative effects of polyozellin and thelephoric acid isolated from *Polyzellus multiplex*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 47, 283-286
- Kim, J.M. and Jung, Y.M. (1995) Immune regulatory and antitumor effect of *Ramaria botrytis* extract. *Korean J. Vet. Publ.*, 19, 181-190
- Chihara, G., Hamuro, T., Maeda, Y. and Fukuoka, F. (1970) Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes*. *Cancer Res.*, 30, 2776-2781
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200
- Nakayama, T., Niimi, T., Osawa, T. and Kawakishi, S. (1991) The protective role of polyphenols in cytotoxicity of hydrogen peroxide. *Mutat. Res.*, 281, 77-80
- Green LM, Reade JL, Ware CF. (1984) Rapid colorimetric assay for cell viability : Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J of Immunological Methods*, 70, 257-263.
- Nakayama, T., Yamada, M., Osawa, T., Kawadishi, S. (1996) Inhibitory effects of caffeic acid ester on H₂O₂-induced cytotoxicity and DNA single-strand breaks in Chinese hamster V79 cells. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 316
- T. Nakayama, M. Yamada, T. Osawa, S. Kawadishi. (1993) Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochem. Pharm.*, 45, 265-269
- Han, J. and Lee, I.S. (2000) Antioxidation and anticancer effects of *Polyzellus multiplex*. *Korean J. Mycol.*, 28, 55-59
- Park, C.S., Kwon, C.J., Choi, M.A., Park, G.S. and Choi, K.H. (2002) Antioxidative and nitrite-scavenging activities of *Cordyceps militaris* extracts. *Korean. J. Food Preserv.*, 9, 109-113
- Choe, S.Y. and Yang, K.H. (1982) Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene(BHT) and butylated hydroxy anisole(BHA). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 14, 283
- Bae, J.T., Chang, J.S. and Lee, K.R. (2002) Effect of *Sarcodon aspratus* extracts on expression of cell cycle-associated properties in HepG2 cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 329-332
- Han, J., Kim, H.J., Lee, S.S. and Lee, I.S. (1999) Inhibitory effects of Meju extracts made with a single inoculum of the fungi isolated from the traditional Meju on the human Leukemia cell line. *Korean J. Mycol.*, 27, 312-317